

趋化因子 CXCL16 与动脉粥样硬化的研究现状

孙颖综述, 常志文审校

(首都医科大学附属北京同仁医院, 北京市 100730)

[关键词] 病理学与病理生理学; CXCL16 趋化因子; 抗原递呈; 动脉粥样硬化

[摘要] 近年新发现的跨膜趋化因子 CXCL16 既具有趋化因子的功能, 可以趋化激活的 T 淋巴细胞, 促进 T 细胞与抗原递呈细胞的作用, 同时还可作为清道夫受体吞噬氧化型低密度脂蛋白, 促进泡沫细胞形成, 此外 CXCL16 还有促进平滑肌细胞、内皮细胞增殖, 增加细胞与细胞黏附的作用, 动脉粥样硬化斑块处巨噬细胞和平滑肌细胞 CXCL16 表达增高, 因此 CXCL16 可能在多个环节参与动脉粥样硬化的发生、发展。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

细胞因子是由机体细胞合成并分泌的小分子蛋白, 在免疫应答和炎症反应中发挥重要作用, 包括白细胞介素、干扰素、集落刺激因子、肿瘤坏死因子、生长因子和趋化因子。绝大多数趋化因子都有 4 个保守的半胱氨酸, 目前已知的趋化因子根据其结构不同, 可分为 CXC (α 亚族)、CC (β 亚族)、C (γ 亚族) 和 CX3C (δ 亚族) 四个亚家族, C 代表半胱氨酸, X 代表任一氨基酸。CXC 亚族, 氨基端两个半胱氨酸被其它任一氨基酸分开。

动脉粥样硬化性 (atherosclerosis, As) 疾病是严重威胁人类健康的一大类疾病, 随着研究的进展, 人们发现 As 不只是简单的脂质堆积, 炎症在其发生、发展以及最终斑块破裂的整个病理过程中显示出至关重要的作用^[1]。因此包括趋化因子在内的许多细胞因子引起人们的关注, 比如干扰素 γ (interferon γ , INF- γ), 肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α), 白细胞介素, 单核细胞趋化因子 MCP-1 等。CXC chemokine ligand 16 (CXCL16) 是 2000 年发现的 CXC 趋化因子家族新成员, 在炎症肝病、风湿性关节炎、肿瘤等疾病中发挥作用外, 研究发现 CXCL16 还参与 As 形成, 本文对 CXCL16 在 As 方面的研究作一综述。

2 趋化因子 CXCL16 概况

2.1 趋化因子 CXCL16 的结构

人 CXCL16 基因定位于染色体 17p13 上, 与其他已知的趋化因子位点分隔^[2]。CXCL16 是由 254 个氨基酸构成, 分子量约为 30 kDa 的跨膜蛋白, 由四个结构域组成: 氨基端含 CXC 的趋化结构域、粘蛋白样结构域, 其将趋化结构域锚定于胞膜上、跨膜区和胞内区^[2, 3], CXCL16 的总体结构与另一个跨膜趋化因子 CX3C 家族成员 CX3CL1 (Fractalkine) 非常相似^[4]。与 Fractalkine 类似, CXCL16 既可以在细胞表面以膜结

合的形式存在, 又可以可溶性分泌型分子存在, 不同形式的 CXCL16 生物学作用不同而又相互关联。金属蛋白水解酶 10 (a disintegrin and metalloprotease 10, ADAM-10) 是两种形式转化的关键因素^[5], CXCL16 在细胞内合成前体, 推测可能是通过糖基化快速成熟, 继而运送到细胞表面, 在那里被 ADAM-10 切割, 脱落形成可溶性 CXCL16^[6]。人和鼠的 CXCL16 分子的氨基酸同源率为 49%, 而在趋化结构域部分的相似性达 70%^[7]。

2.2 趋化因子 CXCL16 及其受体的表达及分布

趋化因子 CXCL16 在抗原递呈细胞选择性表达, 比如树突状细胞和巨噬细胞^[8], 在 T 细胞也有少量有表达, mRNA 水平明显低于巨噬细胞, PMA/ionomycin 可以下调 T 细胞 CXCL16 的表达^[9]。Northern 印迹分析显示 CXCL16 基因在基因组中以单拷贝存在, 可在脾脏、派伊尔氏小结和外周血淋巴细胞中高表达, 在淋巴结中低表达。初级淋巴器官中, CXCL16 可在胸腺中检测到, 而骨髓中无表达。非淋巴组织如肺、肝、胎肝、小肠和肾脏中可显著表达, 而在肾脏、胰脏、胎盘和心脏中低表达, 大脑几乎不表达 CXCL16, 人类的 CXCL16 与小鼠具有相似的表达分布^[7]。

目前已知的趋化因子受体中, 只有 BONZO/STRL33/TYMSTR (同一分子不同命名) 对 CXCL16 配体发生功能性应答, 是 CXCL16 的唯一受体, 又被命名为 CXCR6^[2, 3]。它是含 7 段跨膜区的 G 耦联蛋白, 基因位于第 3 号染色体上。CXCR6 主要在天然 CD8⁺ T 细胞, 自然杀伤细胞和激活的 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞中表达^[8]。

3 趋化因子 CXCL16 的生物学功能与动脉粥样硬化

3.1 趋化因子 CXCL16 趋化激活的 T 细胞、参与树突状细胞与 T 细胞的相互作用

动脉粥样硬化的发病机制与炎症密切相关, As 病变部位发现的白细胞主要有由单核细胞来源的巨噬细胞和 T 淋巴细胞^[10]。巨噬细胞和 T 淋巴细胞可以产生和分泌多种细胞因子如: 多种白细胞介素、趋化因子、生长因子、肿瘤坏死

[收稿日期] 2007-08-29

[修回日期] 2007-12-14

[作者简介] 孙颖, 博士研究生, 主治医师, 联系电话为 010-58268320 或 13366016460, E-mail 为 yusun15@yahoo.com.cn。通讯作者常志文, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为冠心病的发病机制, 联系电话为 010-58268851, E-mail 为 tongrenczw@yahoo.com.cn。

因子及多种酶,他们进而激活内皮细胞,促进平滑肌细胞增殖,斑块进展,最终导致纤维帽破裂,斑块不稳定^[11]。在As损伤处还发现有肥大细胞和树突状细胞与T细胞相互作用^[12]。可见T淋巴细胞在As发生、发展中起重要作用。

实验表明以分泌形式存在的可溶性CXCL16分子具有趋化功能,其可与受体CXCR6结合,趋化CXCR6阳性的T淋巴细胞^[2, 3]。CXCL16和CXCR6还促进抗原递呈细胞与T细胞相互作用,诱导特异细胞亚群的免疫应答,调节激活的T细胞在脾脏红髓中向树突状细胞的迁移^[2]。CXCL16还具有致炎作用,如CXCR6表达效应器T细胞在I型炎症病变如风湿性关节炎及炎性肝病大量存在^[13]。CXCL16在感染性心内膜炎,风湿性和动脉粥样硬化性瓣膜疾病病人的瓣膜和新生毛细血管内皮细胞有强烈表达^[14]。以上研究说明CXCL16趋化激活的T淋巴细胞,与其受体CXCR6一起参与树突状细胞与T细胞的相互作用,可能参与As的炎症反应。

3.2 促进细胞增殖和细胞-细胞间黏附

平滑肌细胞的增殖也是As形成中的重要环节,内膜增厚是动脉粥样硬化斑块的重要组成部分,也被认为是支架后再狭窄的关键,平滑肌细胞的趋化和分裂是内膜增厚的关键。CXCL16及其受体^[4]在动脉平滑肌细胞均有表达,进一步研究发现CXCL16可以增加细胞间黏附并诱导核因子 κ B依赖的主动脉平滑肌细胞增殖^[4]。

在内皮细胞,CXCL16可以剂量依赖的方式刺激人脐静脉内皮细胞的增殖与趋化性,此种增殖作用被丝裂素活化蛋白激酶的抑制剂PD98059所抑制,表明丝裂素活化蛋白激酶可能在CXCL16促进人脐静脉内皮细胞增殖的信号转导方面起到重要作用^[15]。

与Fractalkine非常相似,CXCL16可以对表达其受体CXCR6的细胞发挥黏附因子的作用,参与细胞-细胞间黏附。CXCL16的趋化结构域是特异性识别CXCR6表达细胞,介导这种细胞间黏附的主要结构^[16]。而且,研究发现金属蛋白水解酶抑制剂处理的CXCL16表达细胞黏附增强,说明这种黏附可以被细胞表面膜形式CXCL16表达的增加所加强,而ADAM10调节CXCL16膜锚定形式向可溶性形式释放,可以下调CXCL16表达细胞与CXCR6表达细胞的黏附能力,因此ADAM-10介导的CXCL16脱落,释放可能是调控黏附能力的关键^[16, 17]。

3.3 具有清道夫受体功能

氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)被巨噬细胞表面清道夫受体吞噬,由于这种吞噬不受胞内胆固醇水平的负反馈调节,不断吞噬ox-LDL的巨噬细胞形成泡沫细胞,造成脂质在血管壁堆积,成为As的重要病理基础。

几乎在CXCL16作为趋化因子被发现的同时,其被作为清道夫受体在另一个研究小组发现,被命名为结合磷脂酰丝氨酸和氧化脂蛋白的清道夫受体,其结构虽与清道夫受体家族不同,但同样可以结合内吞ox-LDL^[18]。虽然分泌形式的CXCL16同样具有趋化结构域,但最近有研究表明在体内循环中的可溶性CXCL16与ox-LDL不相关,体外实验也证实可

溶性CXCL16并不能结合ox-LDL^[19]。

3.4 在动脉粥样硬化中的作用

免疫组织化学和定量RT-PCR显示SR-PSOX/CXCL16在人颈动脉和冠状As斑块处脂负荷的巨噬细胞有表达^[20],随后发现人As病变部位平滑肌细胞也有CXCL16表达^[21]。动物研究显示CXCL16及其受体CXCR6在载脂蛋白E基因缺陷小鼠As斑块处有表达^[22]。通过分别对387名心肌梗死病人和468名实施经皮冠状动脉成形术及支架置入术的病人进行基因动态性研究发现,CXCL16基因多态性与冠状动脉狭窄严重程度相关^[23]。

应用双重标记免疫组织化学研究发现在LDL受体缺陷小鼠,CXCL16基因缺陷并没有减轻As,反而伴有As的加重,尽管巨噬细胞积聚氧化LDL的能力有所减低,因此提出CXCL16可能具有保护性作用^[24]。在观察血浆可溶性CXCL16与人类冠心病的关系中,也存在相矛盾的研究结果。Sheikine等^[25]观察40例稳定心绞痛,17例不稳定心绞痛和387例心肌梗死后病人,发现在稳定心绞痛患者血浆可溶性CXCL16显著减低,在不稳定心绞痛也有下降趋势(虽然没有统计学意义),在心肌梗死后病人,血浆CXCL16较对照组也有下降,病变严重程度与血浆CXCL16无相关。而Lehrke等^[26]比较296例稳定冠心病、168例急性冠状动脉综合征(ACS)患者和非冠心病病人血浆可溶性CXCL16水平,结果显示血浆CXCL16在急性冠状动脉综合征和稳定冠心病较非冠心病病人增高,在急性冠状动脉综合征更是显著增高,提出血浆CXCL16在人As中起致炎作用,血浆可溶性CXCL16与冠心病,特别是急性冠状动脉综合征相关,是急性冠状动脉综合征有力的独立预测因子。

4 趋化因子CXCL16的调控机制

T细胞细胞因子IFN- γ 可以诱导体外巨噬细胞和在体动脉硬化斑块处CXCL16的表达;而且IFN- γ 介导的CXCL16表达上调可以增加巨噬细胞对ox-LDL的摄取^[22]。对于动脉平滑肌细胞,Wagsater等^[21]观察比较了包括IFN- γ 、TNF- α 、白细胞介素12、白细胞介素18和脂多糖在内的不同细胞因子对CXCL16表达的影响,结果发现IFN- γ 是最强的调控因子,它可以上调培养的动脉平滑肌细胞CXCL16包括mRNA水平、可溶性形式、膜结合形式和细胞总体水平的表达;并增加其对ox-LDL的摄取。此外,IFN- γ 和TNF- α 协调作用可以增加培养的血管细胞CXCL16 mRNA表达,并且这些细胞自发的释放大量CXCL16^[5]。上述研究表明T细胞来源的细胞因子IFN- γ 是CXCL16的强大刺激因子,增加的CXCL16表达继而促进T细胞募集,这个恶性循环可能增加As的炎症/免疫活性。IFN- γ 对清道夫受体A和CD36影响的研究显示IFN- γ 通过下调清道夫受体和CD36表达,从而抑制修饰型LDL摄取,然而令人惊讶的是载脂蛋白E和IFN- γ 双基因缺陷小鼠并没有表现出As的加重,而是表现为As病变和脂质堆积的减轻。与此相似,给予重组IFN- γ 的载脂蛋白E缺陷小鼠As病变加重^[27]。IFN- γ 虽然下调清道夫受体和CD36,但是上调CXCL16表达,这可能有助于解释这些相互矛盾的

研究^[28]。

白细胞介素 18 可以加重 T 细胞敲除免疫缺陷小鼠 As 的形成, 研究提示白细胞介素 18 可能是通过 INF- γ 介导的 CXCL16 表达增加发挥了致 As 作用^[28]。白细胞介素 18 还可以诱导动脉平滑肌细胞 CXCL16 的表达^[21, 29], 其不是依赖于白细胞介素 1 β 、TNF- α 和 INF- γ , 而是 AP-1 (activator protein 1) 依赖性的^[29]。

脂多糖是 CXCL16 的另一个刺激因子, Lehrke 等^[26]通过人内毒素血症模型发现, 人内毒素血症诱导 CXCL16 表达。脂多糖还可以诱导动脉平滑肌细胞培养基中 CXCL16 增高 2 倍^[21]。此外, 核因子 κ B 的激活在人巨噬细胞 CXCL16 的诱导是必须的。阿司匹林可以削弱核因子 κ B 信号途径, 从而抑制 CXCL16 表达, PPAR- γ 激动剂噻唑烷二酮类药物通过激活 PPAR- γ 而对抗核因子 κ B, 也下调 CXCL16 表达^[26]。

5 结语

趋化因子 CXCL16 是 CXC 趋化因子家族的一员, 其既可以膜结合形式存在又可以可溶性形式存在。CXCL16 具有趋化因子的功能, 可以趋化激活的 T 淋巴细胞, 促进 T 细胞与抗原递呈细胞的作用, 此外 CXCL16 还有促进平滑肌细胞, 内皮细胞增殖, 增加细胞与细胞黏附的作用。CXCL16 还作为清道夫受体吞噬氧化低密度脂蛋白, 促进泡沫细胞形成, T 细胞因子 INF- γ 是 CXCL16 的刺激因子。CXCL16 可能在 As 的病理过程的多个环节发挥作用, 血浆可溶性 CXCL16 可能是急性冠状动脉综合症的独立预测因子, 然而到目前为止 CXCL16 与 As 的关系还有许多不明确的地方, 特别是在动物实验和人的相关研究中还存在许多矛盾, 因此对 CXCL16 进行更深入的研究是非常必要的。

[参考文献]

- Libby P, Ridker P M, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis [J]. *Circulation*, 2002, **105** (9): 1 135-143.
- Matloubian M, David A, Engel S, et al. A transmembrane CXC chemokine is a ligand for HIV-coreceptor Bonzo [J]. *Nat Immunol*, 2000, **1** (4): 298-304.
- Wilbanks A, Zondlo SC, Murphy K, et al. Expression cloning of the STRL33/BONZO/TYMSTR ligand reveals elements of CC, CXC, and CX3C chemokines [J]. *J Immunol*, 2001, **166** (8): 5 145-154.
- Chandrasekar B, Bysani S, Mummidi S. CXCL16 signals via Gi, phosphatidylinositol 3-kinase, Akt, I kappa B kinase, and nuclear factor-kappa B and induces cell-cell adhesion and aortic smooth muscle cell proliferation [J]. *J Biol Chem*, 2004, **279** (5): 3 188-196.
- Abel S, Hundhausen C, Mentlein R, et al. The transmembrane CXC-chemokine ligand 16 is induced by IFN-gamma and TNF-alpha and shed by the activity of the disintegrin-like metalloproteinase ADAM10 [J]. *J Immunol*, 2004, **172** (10): 6 362-372.
- Gough PJ, Garton KJ, Wille PT, et al. A disintegrin and metalloproteinase 10-mediated cleavage and shedding regulates the cell surface expression of CXC chemokine ligand 16 [J]. *J Immunol*, 2004, **172** (6): 3 678-685.
- 徐焕宾, 熊思东. 新发现的 CXCL16 趋化因子及其受体 [J]. *生命的化学*, 2003, **23** (1): 8-10.
- Shimaoka T, Nakayama T, Kume N, et al. Cutting edge: SR-PSOX/CXC chemokine ligand 16 mediates bacterial phagocytosis by APCs through its chemokine domain [J]. *J Immunol*, 2003, **171** (4): 1 647-651.
- Shashkin P, Simpson D, Mishin V, et al. Expression of CXCL16 in human T cells [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, **23** (1): 148-149.
- Hansson GK. Immune mechanisms in atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001, **21** (12): 1 876-890.
- Koenig W, Khuseynova N. Biomarkers of atherosclerotic plaque instability and rupture [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, **27** (1): 15-26.
- Bobryshev YV, Lord RS. Mapping of vascular dendritic cells in atherosclerotic arteries suggests their involvement in local immune-inflammatory reactions [J]. *Cardiovasc Res*, 1998, **37** (3): 799-810.
- Kim CH, Kunkel EJ, Boisvert J, et al. Bonzo/CXCR6 expression defines type 1-polarized T-cell subsets with extralymphoid tissue homing potential [J]. *J Clin Invest*, 2001, **107** (5): 595-601.
- Yamauchi R, Tanaka M, Kume N, et al. Upregulation of SR-PSOX/CXCL16 and recruitment of CD8⁺ T cells in cardiac valves during inflammatory valvular heart disease [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, **24** (2): 282-287.
- Zhuge X, Murayama T, Arai H, et al. CXCL16 is a novel angiogenic factor for human umbilical vein endothelial cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, **331** (4): 1 295-300.
- Shimaoka T, Nakayama T, Fukumoto N, et al. Cell surface-anchored SR-PSOX/CXC chemokine ligand 16 mediates firm adhesion of CXC chemokine receptor 6-expressing cells [J]. *J Leukoc Biol*, 2004, **75** (2): 267-274.
- Hundhausen C, Myszela D, Berkhout TA, et al. The disintegrin-like metalloproteinase ADAM10 is involved in constitutive cleavage of CX3CL1 (fractalkine) and regulates CX3CL1-mediated cell-cell adhesion [J]. *Blood*, 2003, **102** (4): 1 186-195.
- Shimaoka T, Kume N, Minami M, et al. Molecular cloning of a novel scavenger receptor for oxidized low density lipoprotein, SR-PSOX, on macrophages [J]. *J Biol Chem*, 2000, **275** (52): 40 663-666.
- van Lieshout AW, Popa C, Meyer-Wentrup F, et al. Circulating CXCL16 is not related to circulating oxLDL in patients with rheumatoid arthritis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, **355** (2): 392-397.
- Minami M, Kume N, Shimaoka T, et al. Expression of scavenger receptor for phosphatidylserine and oxidized lipoprotein (SR-PSOX) in human atheroma [J]. *Ann NY Acad Sci*, 2001, **947** (20): 373-376.
- Wagsater D, Olofsson PS, Norgren L, et al. The chemokine and scavenger receptor CXCL16/SR-PSOX is expressed in human vascular smooth muscle cells and is induced by interferon gamma [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **325** (4): 1 187-193.
- Wuttge DM, Zhou X, Sheikine Y, et al. CXCL16/SR-PSOX is an interferon-gamma-regulated chemokine and scavenger receptor expressed in atherosclerotic lesions [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, **24** (4): 750-755.
- Lundberg GA, Kellin A, Sannegard A, et al. Severity of coronary artery stenosis is associated with a polymorphism in the CXCL16/SR-PSOX gene [J]. *J Intern Med*, 2005, **257** (5): 415-422.
- Aslanian AM, Charo IF. Targeted disruption of the scavenger receptor and chemokine CXCL16 accelerates atherosclerosis [J]. *Circulation*, 2006, **114** (6): 583-590.
- Sheikine Y, Bang CS, Nilsson L, et al. Decreased plasma CXCL16/SR-PSOX concentration is associated with coronary artery disease [J]. *Atherosclerosis*, 2006, **188** (2): 462-466.
- Lehrke M, Millington SC, Lefterova M, et al. CXCL16 is a marker of inflammation, atherosclerosis, and acute coronary syndromes in humans [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2007, **49** (4): 442-449.
- Whitman SC, Ravisankar P, Elam H, et al. Exogenous interferon-gamma enhances atherosclerosis in apolipoprotein E^{-/-} mice [J]. *Am J Pathol*, 2000, **157** (6): 1 819-824.
- Tenger C, Sundborger A, Jawien J, et al. IL-18 accelerates atherosclerosis accompanied by elevation of IFN-gamma and CXCL16 expression independently of T cells [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, **25** (4): 791-796.
- Chandrasekar B, Mummidi S, Valente AJ, et al. The proatherogenic cytokine interleukin 18 induces CXCL16 expression in rat aortic smooth muscle cells via MyD88, interleukin 1 receptor-associated kinase, tumor necrosis factor receptor-associated factor 6, c-Src, phosphatidylinositol 3-kinase, Akt, c-Jun N-terminal kinase, and activator protein 1 signaling [J]. *J Biol Chem*, 2005, **280** (28): 26 263-277.

(此文编辑 陈临溪, 李小玲)